

A projekt négy munkaévében, a kutatási tervben kitűzött céloknak megfelelően, az antiaritmiás és proaritmiás hatás mechanizmusában szereplő tényezők vizsgálatára került sor, amely az alábbi fontosabb új megállapításokhoz vezetett:

1) A késői egyenirányító kálium-áram gyors komponensének ( $I_{Kr}$ ) teljes blokkolása, kutya kamrai szívműködésében, közel 50 %-os repolarizációs idő (RI) növekedést okoz. Ezzel szemben ugyanezen áram lassú komponensének ( $I_{Ks}$ ) specifikus gátlása az RI csekély (<7%-os) megnyúlását eredményezi. Teljes  $I_{Kr}$ -blokk esetén azonban az  $I_{Ks}$ -gátlás ezen hatása nagymértékben (mintegy 5-szörösére) növekszik. – Ehhez hasonlóan igen jelentősen fokozódik a befelé egyenirányító kálium-áram ( $I_{K1}$ ) RI-t megnyújtó hatása is teljes  $I_{Kr}$ -blokk alatt, s gyakran vezet elemi proaritmiás jelenségek (főként korai utódepolarizáció) megjelenéséhez. Az eredmények arra utalnak, hogy a kamrai szívműködés jelentős „**repolarizációs tartalék**”-kal rendelkezik; egyetlen kálium-csatorna gátlása még nem okoz proaritmiás mértékű RI megnyúlást. Ezen „tartalék” gyengítése egy másik kálium-csatorna egyidejű gátlása útján azonban a „repolarizációs rezerv” olyan mértékű csökkenéséhez vezethet, hogy az egyébként minimális kálium-csatorna blokk is nagyon jelentős mértékű, már proaritmiás RI növekedést hoz létre. Ebből következik, hogy a terápiás koncentráció-tartományban *több* szívműködés kálium-csatorna gátlására is képes gyógyszerek ill. gyógyszerjelöltek alkalmazása feltehetően *fokozott* aritmia-veszéllyel járhat; a „repolarizációs tartalék”-ra kifejtett hatásukat célszerű mindenkor részletesen is megvizsgálni. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *British Journal of Pharmacology* 137:361-368,2002).

2) A „repolarizációs tartalék” csökkenésének veszélye nem korlátozódik a szívre ható gyógyszerekre. Mellékhatásait kutya vizsgálatánál kitűnt, hogy a neuroprotektív hatású eliprodil, amely önmagában csekély mértékű repolarizációs idő (az EKG-n QTc) megnyúlást okozhat és kamrai szívműködésben, a késleltetett egyenirányító kálium-áram gyors komponensének ( $I_{Kr}$ ) gátlását idézi elő, a normális „repolarizációs tartalék” csökkenésekor [pl. a befelé egyenirányító kálium-áram ( $I_{K1}$ ) gátlása esetén] igen jelentősen növeli a repolarizációs időtartamát és nagymértékben fokozza a súlyos proaritmia („torsade des pointes”) veszélyét, ezáltal letális kamrafibrillációhoz vezethet. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *British Journal of Pharmacology* 143:152-158,2004.)

3) A „repolarizációs tartalék” kutyán, 1.tipusú experimentális (alloxán-kezeléssel kiváltott) diabetesben is csökken, s így növeli a proaritmia és a hirtelen szívhalál veszélyét. Ennek elejét a kamrai miocitákban a kifelé haladó, tranziens kálium-áram ( $I_{to}$ ) és a késleltetett egyenirányító kálium áram lassú komponensének ( $I_{Ks}$ ) gátlása képezi. Az ion-csatorna fehérjék közül a Kv4.3 és a Mink expresszióját a diabetes jelentősen csökkenti. (Eredményeink részletei folyóiratban közölt előadáskivonatunkban: *Diabetologia* 47 (Suppl.1): A426, 2004.)

4) Szívbillentyű átültetés céljára használt, egészséges humán donor szívekből izolált kamrai miocitákon a késleltetett egyenirányító kálium-áram ( $I_{Ks}$ ) farmakológiai gátlása, főként egyidejű adrenerg aktiváció jelenlétében, a „repolarizációs rezerv” csökkentése révén, jelentősen növeli a proaritmia rizikóját. Ennek alapján az  $I_{Ks}$

gyógyszeres növelése viszont (pl. hosszú QT szindrómában) preventív hatású lehet, gátolva az aritmogén hirtelen szívhalál esélyét. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *Circulation* 112:1392-1399,2005.)

5) Egészséges humán miokardiumban a késői egyenirányító kálium-áram gyors ( $I_{Kr}$ ) és lassú ( $I_{Ks}$ ) komponensének paraméterei patch-clamp technikával mérve, a kutyáéhoz, nagyrészt a nyúléhoz hasonlóak és jelentősen különböznek a tengerimalacétól. Ennek megfelelően alakul az említett áramokra ható potenciális anti- és proaritmiás szerekre/befolyásokra vonatkozólag az állatkísérletes modelleken nyert eredmények humán relevanciája. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *Cardiologia Hungarica* 34:E75-E84,2004.)

6) Az antiaritmiás és proaritmiás hatások *molekuláris biológiai* alapjainak, a repolarizáló kálium-áramok esetében, egymástól eltérő aritmia-hajlamú speciesek szívéből nyert mintákon végzett összehasonlító elemzése során azt találtuk, hogy a  $K^+$ -csatorna alegységek ( $I_{to}$ -nál Kv1.4, Kv4.2, Kv4.3:  $I_{Ks}$ -nél LQT1, MinK;  $I_{Kr}$ -nél ERG1) expressziójában jelentős különbségek állnak fenn az ember, a tengerimalac és a nyúl között. Ezek magyarázatul szolgálhatnak arra, hogy 1) a tranziens kifelé haladó áram ( $I_{to}$ ) hiányzik tengerimalacban; 2) a csekély mértékű MinK expresszió és a viszonylag kicsiny késleltetett egyenirányító  $K^+$ -áram  $I_K$  miatt csökkent az életveszélyes kamrai ritmus-zavarok, főként a kaotikus kamrai tachikardia ('torsades de pointes') iránti hajlam nyúlban; 3) az intenzív MinK expresszió folytán a késleltetett egyenirányító  $K^+$ -áram lassú komponense ( $I_{Ks}$ ) igen kifejezett tengerimalacban. Megállapítottuk, hogy humán szívizomban a  $K^+$ -csatorna alegységek expressziójának mértéke a vizsgált speciesekhez viszonyítva sorrendben a következő: KvLQT1 és ERG1 esetében ember>nyúl>tengerimalac; MinK-re vonatkozólag tengerimalac>ember>nyúl). Mindez egyúttal segítséget nyújt az antiaritmiás és proaritmiás hatások modelljeinek kiválasztásában és ezen modelleken nyert eredmények interpretálásában. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *American Journal of Physiology* 285:H1641-H1649, 2003.)

7) A nátrium-kalcium csereáram ( $I_{Na^+/Ca^{2+}}$ ) gátlásának következményeit kutyaszív kamrai miocitáin vizsgálva megállapítottuk, hogy ez a beavatkozás antiaritmiás hatású lehet. Ezen áram szelektív inhibitorainak (SEA-0400) azon koncentrációi, amelyek az L-típusú kalcium-áramot és az intracelluláris kalcium tranziens nem befolyásolják, gátolják a gyakran letális szívritmus-zavarokhoz vezető elemi, aritmogén elektrofiziológiai jelenségeket (a korai és késői utódepolarizációt, triggerelt aktivitást). Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkeinkben: *British Journal of Pharmacology* 143:827-831,2004; *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 372:63-70,2005.)

8) A különböző hagyományos és újtipusú antiaritmiás szerek hatásmechanizmusában jelentős szerepet játszanak a következő tényezők:

8.1 Az I/A típusú, a gyors nátrium áramot ( $I_{Na}$ ) gátló szerek (kinidin, dizopiramid, prokainamid) a repolarizáló kálium áramokat, nyúl izolált kamrai szívizomsejtjein, egymástól eltérően befolyásolják. A tranziens kálium-áram ( $I_{to}$ )

amplitúdóját és gyors inaktivációját a dizopiramid és a kinidin csökkenti, a prokainamid nem befolyásolja. Ezzel szemben mindhárom szer gátolja a késői egyenirányító ( $I_K$ ) és az ATP-aktivált ( $I_{KATP}$ ) kálium-áramot, viszont egyikük sem hat a befelé egyenirányító káliumáramra ( $I_{K1}$ ). Mindez részben megmagyarázza a szóbanforgó szerek eltérő hatás-spektrumát szívritmus-zavarokban. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 8:31-41,2003.)

8.2. A III típusú (szelektív kálium-csatorna blokkoló) antiaritmiás szerként számontartott *azimilid*, kutya kamrai szívizom- és Purkinje-roston végzett vizsgálataink szerint, nemcsak a késői egyenirányító kálium-áram komponenseit ( $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$ ), hanem a befelé haladó kalcium- ( $I_{CaL}$ ) és, frekvencia-függő módon, a gyors nátrium-áramot ( $I_{Naf}$ ) is gátolja. Ily módon az *azimilid* az ún. „hibrid” típusú antiaritmiás szerek csoportjába sorolható, s ez magyarázatot ad arra, hogy az újabb klinikai vizsgálatok során miért bizonyult a szer kiemelkedően hatékonynak különböző pitvari és kamrai aritmiákban egyaránt. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *European Journal of Pharmacology* 39:7-11, 2002.)

8.3. A befelé egyenirányító kálium-áram ( $I_{K1}$ ) viszonylag szelektív gátlása (kis koncentrációjú  $BaCl_2$ -al) kutya kamrai szívizomban az intracellulárisan regisztrált akciós potenciálok „fordított-frekvencia-függő” megnyúlását eredményezi, hasonlóan ahhoz, ahogy az a késleltetett egyenirányító kálium-áram ( $I_{Kr}$ ) blokkoló antiaritmiás szerek (pl. *dofetilid*) alkalmazásakor történik. Ez indokoltta teheti, mindeddig nem létező, nagy specificitású, szelektív,  $I_{K1}$ - blokkoló antiaritmiás szer előállítását. (Részletek az OTKA támogatását is feltüntető könyvfejezetünkben: *Atrial fibrillation: new therapeutic concepts*. IOS Press, Amsterdam, pp. 27-39,2003.)

8.4. Komplex szívritmus-zavarokban intenzív antiaritmiás hatás *többféle miokardiális ioncsatorna együttes gátlása* esetén remélhető. Erre utalnak a KC-8857 jelzésű, új, nagy hatékonyságú antifibrilláns vegyület (tedisamil) hatásmódjára vonatkozó eredményeink, amelyek szerint a molekula négy különböző kálium-áramot ( $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$ ,  $I_{to}$ ,  $I_{ATP}$ ) valamint a befelé haladó gyors nátrium-áramot ( $I_{Na}$ ) gátolja és III+IA/B osztályú antiaritmiás szerként klasszifikálható. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *Current Medicinal Chemistry* 11:3219-3228,2004.)

8.5. A *terikalant*, egy gyógyszerre fejlesztés alatt álló új, antiaritmiás sajátosságú vegyület hatásmódját kutya kamrai szívizmán és Purkinje rostjain vizsgálva kitűnt, hogy a molekula az ún. „hibrid”-típusú szerek csoportjába sorolható; nemcsak kálium-csatorna, hanem egyúttal „frekvencia-függő” gyors nátrium-csatorna ( $I_{Naf}$ ) gátló sajátossággal is rendelkezik, rapid blokkoló és hosszabb helyreállási kinetikával. (Eredményeinek részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *European Journal of Pharmacology* 510:161-166,2005.)

8.6. A *levosimendan* – egy az akut szívelégtelenség kezelésére alkalmas, új *miofibrilláris kalciumérzékenyítő* pozitív inotróp szer – krónikusan, oralisan adagolva jelentős antiaritmiás hatást is kifejt patkányon, regionális szívizom-ischaemia okozta szívritmus-zavarokban, beleértve a kamrafibrillációt, s főként ezáltal szignifikánsan csökkenti a koszorúér-elzárást követő letalitást. Ez a hatás szívinfarktust követő ritmus-zavarokkal szövődött szívelégtelenségben különösen kedvező lehet. A *levosimendan* antiaritmiás hatásában *haemodinamikai tényezők* (venodilatátor és koronária-tágító sajátságai) is szerepet játszhatnak. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkeinkben: *European Journal of Pharmacology* 470:163-170,2003; *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 94:271-273,2004; *Cardiovascular Drugs and Therapy* 17:115-121,2003.)

9) Új molekulák hatás-szerekezet összefüggéseinek elemzése során kimutattuk, hogy a gyors nátrium-csatornát ( $I_{NaF}$ ) rapid helyreállási kinetikával blokkoló (ún. I/B-típusú) és egyidejűleg a késleltetett káliumáram gyors komponensét ( $I_{Kr}$ ) gátló (ún. III-típusú), kombinált hatásmechanizmusú vegyületek kiemelkedően hatékony és biztonságos antiaritmiás gyógyszerjelölteknek tekinthetők. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *Current Medicinal Chemistry* 11:61-69,2004.)

10) Új hatás-típusú antiaritmiás szerek kifejlesztésének és a proaritmiás hatások csökkentésének több elméleti lehetőségét vetettük fel a szívizomsejtek szarkolemmális ion-csatornáira és transzportereire vonatkozó mechanizmusok áttekintő vizsgálata alapján. Megállapítottuk, hogy az életveszélyes szívritmus-zavarok gyógyszeres megelőzése és terápiája sokkal inkább remélhető új antiaritmiás mechanizmusok feltárása, mint az ismert antiaritmiás szerek új származékainak előállítására. (Részletek *in extenso* folyóiratcikkeinkben, *Current Medicinal Chemistry* 11:1-11,2004; *Current Pharmaceutical Design* 10:2411-2427,2004.)

11) A *prekondicionálás* korai és késői intenzív *antiaritmiás hatásának mechanizmusát* elemezve több új megállapítást tettünk:

11.1 A szívizom-ischaemiával *prekondicionálás* által kutyán előidézett *korai* antiaritmiás hatásban reaktív oxigén-gyökök képződése nem játszik trigger-szerepet. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *Cardiovascular Drugs and Therapy* 18:449-459,2004.)

11.2 *Prosztaciklin*-képződés (szelektív *ciclooxygenáz-2* gátlás) nem járul hozzá a fizikai terheléssel kiváltott késői *prekondicionálással* előidézett antiaritmiás hatáshoz kutyán, koronária-elzárással létrehozott súlyos szívritmus-zavarokban. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *European Journal of Pharmacology* 499:197-199,2004.)

11.3 A fizikai terheléssel kutyán kiváltott *prekondicionálás késői* antiaritmiás aktivitását a *nitrogén-oxid-szintáz* indukált formájának (*iNOS*) szelektív gátlása csökkenti, bizonyítva a *nitrogén-oxid* fontos kardioszelektív (trigger és mediátor)

szerepét ezen késői antiaritmiás hatásban. (Eredményeink részletei *in extenso* folyóiratcikkünkben: *Life Sciences* 77:1960-1971,2005.)

A zárójelentésben *kizárólag* már publikált eredményeinket foglaltuk össze 19 *in extenso* folyóiratcikkünk (összesített impakt faktor: 57.40), 1 könyvfejezetünk és 1 előadáskivonatunk alapján, amelyek mindegyikében említésre került az OTKA (ny.sz.: T037520) támogatása.